

DIE DOPA-OXYDASEAKTIVITÄT IN DER HAUT DES HUNDES UNTER NORMALEN UND PATHOLOGISCHEN BEDINGUNGEN

Theodor Mantel

1967

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554023_0102

Aus dem Institut für Tierpathologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. H. Sedlmeier

DIE DOPA-OXYDASEAKTIVITÄT IN DER HAUT DES HUNDES UNTER NORMALEN UND PATHOLOGISCHEN BEDINGUNGEN *)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Theodor Mantel
aus
München

München 1967

*) Mit Unterstützung der Weltgesundheitsorganisation (WHO)

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. A. Herrlich
Referent: Prof. Dr. H. Sedlmeier
Korreferent: Prof. Dr. E. Weiß

Tag der Promotion: 28. Juli 1967



Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Literaturübersicht	2
1. Nomenklatur der Pigmentzellen	2
2. Histogenese der Pigmentzellen	4
3. Histomorphologie und Physiologie der Pigmentzellen	13
a) Morphologische Untersuchungen an Pigmentzellen	13
b) Die intrazelluläre Synthese des Melanins	15
c) Der Transport des Melanins	17
4. Die Biochemie der Melaninsynthese	18
5. Die hormonelle Beeinflussung der Melanogenese	20
III. Eigene Untersuchungen	23
1. Material	23
2. Methodik	23
3. Ergebnisse der eigenen Untersuchungen	25
IV. Diskussion der Ergebnisse	53
V. Zusammenfassung	55
VI. Literaturverzeichnis	63

I. Einleitung

Am Institut für Tierpathologie der Universität München wurde 1966 von der Weltgesundheitsorganisation ein "Collaborating Centre for Comparative Oncology for Skin Tumours" geschaffen. Eine wichtige Aufgabe dieses Zentrums ist es, eine allgemein gültige histologische Klassifikation und Nomenklatur der Hauttumoren der Haustiere zu erarbeiten.

In der vorliegenden Arbeit sollen histochemische Grundlagen (Dopa) für eine spätere Klassifikation und Nomenklatur der Melanome geschaffen werden.

II. Literaturübersicht

1. Nomenklatur der Pigmentzellen

Während der letzten 50 Jahre hat sich die Erforschung des Problems der Histomorphologie und Histogenese sowie aller damit zusammenhängenden Fragen zu einem Komplex entwickelt, an dem Biochemiker, Pathologen, Anatomen, Dermatologen, Genetiker und Zoologen mitarbeiten.

Als großes Hindernis für eine erfolgreiche Zusammenarbeit aller beteiligten Disziplinen hat sich dabei immer wieder die uneinheitliche Nomenklatur der Pigmentzellen erwiesen. Einen Versuch zur Koordinierung der unterschiedlichen Bezeichnungen für die einzelnen Arten der Pigmentzellen stellt die "Dritte Konferenz über die Biologie der normalen und atypischen Pigmentzelle" im Jahre 1951 dar (LUND, 1962). Die von den Teilnehmern dieser Konferenz empfohlenen und vom Subkomitee für Onkologie des Komitees für Pathologie des National Research Council übernommenen Bezeichnungen sind - in Gegenüberstellung mit den bisherigen Bezeichnungen der Biologen und Mediziner aus der Tabelle auf Seite 3 zu ersehen (FITZPATRICK und LERNER, 1953; LUND, 1962; ZIMMERMANN, 1965). Eine Bestätigung und weitergehende Determinierung dieser Bezeichnungen zeigt die 6. Internationale Pigmentzellen-Konferenz in Sofia (Bulgarien) im Mai 1965 (DELLAPORTA und MÜHLBOCK, 1966).

Zellart	Biologische Bezeichnung	Medizinische Bezeichnung	Empfohlene Nomenklatur
Kontraktile Zelle 1)	Melanophore	-----	Melanophore
Eigentliche Pigmentzelle	Melanophore	Melanoblast	Melanozyt 2)
Unreife Pigmentzelle	Melanoblast	-----	Melanoblast
Pigmentierte Makrophage	Melanophage	Melanophore	Melanophage (Makrophage)
Gelegentlich pigmentierte Zelle	-----	Melanophore	Pigmentierte Basalzellen, pigmentierte Nervenzellen, pigmentierte Tumorzellen etc.

- 1) Kontraktile Zellen sind nur in niederen Tieren, wie z.B. Eidechsen, enthalten und sind in der Lage, das Pigment in die dendritischen zytoplasmatischen Fortsätze zu bringen und es umgekehrt wieder aus diesen in den Zellkörper zurückzuholen. Durch diesen Vorgang entsteht der bekannte Farbwechsel.
- 2) Die empfohlene Bezeichnung "Melanozyt" wird häufig noch - entsprechend der normal gegebenen anatomischen Lokalisation - detaillierter klassifiziert, wie z.B. epidermal, dermal, neural, meningeal etc.

2. Histogenese der Pigmentzellen

Die älteren Auffassungen über die Herkunft der Pigmentzellen beruhen ausschließlich auf der Untersuchung mikroskopischer Präparate und können heute durch die experimentellen Forschungen als überholt gelten. Wegen ihrer besonderen Bedeutung für die damalige Epoche der Pigmentforschung seien sie hier dennoch aufgeführt.

Nach MEIROWSKY und FREEMAN (1951) lassen sich die einzelnen Perioden in der Erforschung der Histogenese der Pigmentzellen wie folgt einteilen:

a) Die Periode EHRMANN:

EHRMANN (1896) und SCHUBERG (1903) nehmen für die dermalen Pigmentzellen einen mesodermalen Ursprung an, jedoch soll es sich hierbei nicht um spezialisierte Bindegewebszellen oder Leukozyten handeln, sondern um einen besonderen Zellstamm eigener Art.

Diese spezifischen Zellen nennt EHRMANN "Melanoblasten" und nimmt an, daß ihre Ausläufer die Epithelzellen mit Pigment versorgen.

b) Die Periode nach EHRMANN:

JARISCH (1892), und KREIBICH (1913) sind der Ansicht, daß nur die Epidermiszellen zur primären Pigmentbildung fähig sind. Das Pigment sei ein metabolisches Kernumwandlungsprodukt in der Dermis. Auftretende Pigmentzellen sind aus der Epidermis ausgewanderte Zellen.

c) Die Periode BLOCH:

Hier vertreten MIESCHER (1922) und BLOCH (1927) die Auffassung, daß ausschließlich Epithelzellen zur Pigmentbildung durch temporäre Umwandlung von Basalzellen in epidermale Melanozyten fähig sind im Gegensatz zu oberflächlichen Bindegewebszellen, die das epithelial gebildete Pigment nur phagozytieren.

d) Die Granulozyten-Theorie

AEBY (1895) und PRENANT (1909) vertreten die Meinung, daß Granulozyten (Wanderzellen, Leukozyten) aus hämatogenen Vorstufen Pigment bilden und dieses an die Epidermiszellen abgeben. RABL (1896) vermutet einen leukozytären Ursprung der epidermalen Pigmentzellen, nimmt aber für die Herkunft der dermalen Pigmentzellen Mesenchymzellen an.

Nach der modernen Auffassung von BORCEA (1909), WEIDENREICH (1912), ZIMMERMANN und CORNBLEET (1948), ZIMMERMANN (1948), RAWLES (1948), Du SHANE (1943/1944) sowie BECKER und ZIMMERMANN (1955)

sind die Melanoblasten Abkömmlinge der Neuralleiste und somit ektodermalen Ursprungs. Nur GOLDBERG (1958) hält trotz der fundierten experimentellen Untermauerung der Neuralleistentheorie an der mesodermalen Herkunft der Melanoblasten fest.

Urheber der Neuralleisten-Theorie sind BORCEA (1909) und WEIDENREICH (1912), die beide unabhängig voneinander durch zahlreiche embryologische Experimente ihre Thesen bestätigt finden. Auf ihre Arbeiten sei im folgenden näher eingegangen:

BORCEA löst das Problem hauptsächlich durch die Wahl eines sehr günstigen Versuchsobjektes: die jungen durchsichtigen Keime von pelagischen Knochenfischen (Belone, Uranoscopus, Labrax) zeigen deutlich die Wanderung der Neuralleistenzellen bis in die Peripherie des Körpers. Durch die sehr frühzeitige Ausreifung des Melanins - mitunter noch am ersten Tag des Embryonallebens - in den Neuralleistenzellen war die Verbindung von Neuralleistenzellen und Melanoblasten gesichert.

WEIDENREICH benützt für seine Untersuchungen Entwicklungsreihen von Petromyzon und Amphibien (Salamandra, Rana) und kommt zu dem Schluß, daß die Entstehung der Pigmentzellen nicht mit der Ausreifung des Pigmentes in präformierten Zellen zu verwechseln ist. In seiner zusammenfassenden Betrachtung meint WEIDENREICH:

"Es scheint mir nämlich so, als wenn die Pigmentzellen ektodermaler Herkunft wären und sich aus der Zellmasse des Verschlußgebietes des Neuralrohres ähnlich wie die Nervenleiste loslösten, um sich von da aus im Organismus auf bestimmten Wegen auszubreiten; die Ausarbeitung des Pigmentes braucht dabei erst zu erfolgen, wenn die

Zelle ihr Lokalisationsgebiet bereits erreicht hat."

Wegen ihrer überragenden Bedeutung soll im Folgenden näher auf die Neuralleisten-Theorie und ihre anatomisch-entwicklungsgeschichtlichen Grundlagen eingegangen werden.

Bei den Embryonen aller Wirbeltiere finden wir im dorsalen Körperbereich zwischen Epidermis und Neuralrohr eine Zelllage oder einen Zellkeil, die Neuralleiste (STARCK, 1964). Als selbständiges Embryonalorgan differenziert sie sich im Grenzbereich von Neuralrohr und Epidermis, ohne sich jedoch einem dieser benachbarten Organe näher zuzuordnen (Abb. 1).

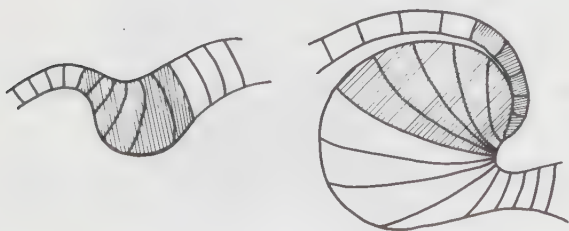


Abb. 1: Die Lage des Neuralleistenmaterial (schraffiert) im Medullarplatten- (links) und Medullarwulst-Stadium (rechts) bei Schwanzlurchen (*Amphystoma*). Bei beiden Abbildungen jeweils links Epidermis, rechts Medullaranlage (mod. nach STARCK, 1964).

Aufgrund experimenteller Untersuchungen wurde schon frühzeitig der Nachweis erbracht, daß die Spinalganglien und die dorsalen Wurzeln der spinalen Nerven aus der Neuralleiste hervorgehen (HIS, 1887), was dieser dann die Bezeichnung "Ganglienleiste" eintrug. Nach Schluß des Neuralrohres liegt die Neuralleiste dann lateral des Neuralrohres und medial des Somiten, wobei eine segmentale Gliederung analog der Zahl und Anordnung der Spinalganglien festzustellen ist (Abb. 2).

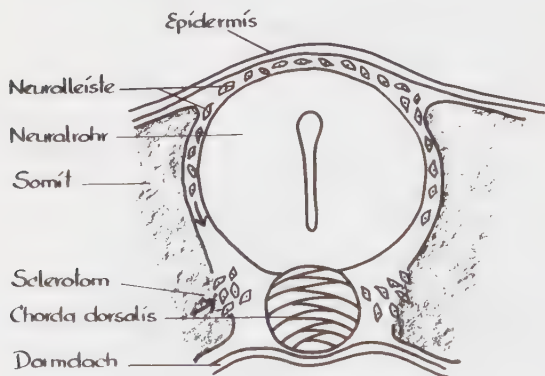


Abb. 2: Querschnitt durch einen älteren Amphibien-Embryo. Erkennbar sind hierbei die auswandernden Neuralleistenzellen und die Mesenchymbildung aus Somiten (mod. nach STARCK, 1964).

Durch Exstirpationsversuche an den Somiten kann festgestellt werden, daß die Differenzierung und segmentale Gliederung der Neuralleiste durch die Somiten induziert wird.

Bei nach ventral gerichteter Wanderung der Neuralleistenzellen zwischen Somit und Neuralrohr bleibt der ganglienbildende Bezirk als kompakter Zellhaufen deutlich erkennbar. Eine Abgrenzung der Neuralleistenzellen - besonders im ventralen Bereich - gegenüber dem Mesenchym ist jedoch mit anatomischen Methoden nicht durchführbar (Abb. 3).

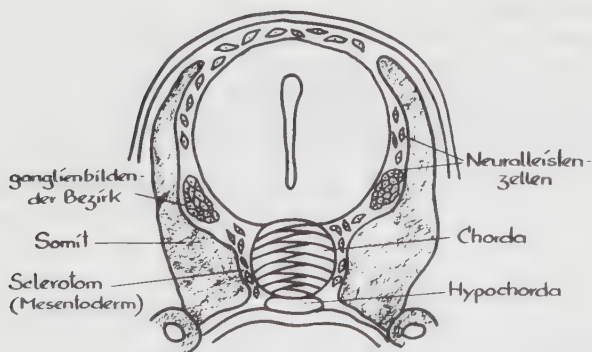


Abb. 3: Die Differenzierung von Mesektoderm, ganglienbildendem Bezirk und Mesoderm (mod. nach STARCK, 1964).

Befunde an Amphibien

Durch die experimentelle Embryologie wird später für Amphibien der Nachweis erbracht, daß große Mengen Mesenchyms ihren Ursprung aus der Neuralleiste nehmen (HÖRSTADIUS und SELLMAN, 1946). Die Gesamtheit dieses aus der Neuralleiste stammenden Mesenchymmaterials wird von STARCK (1964) als Mesektoderm oder Ektomesoderm bezeichnet.

Eine zusammenfassende Schilderung von der Pluripotenz der Neuralleiste gibt schließlich STARCK (1964) wenn er feststellt, daß die Neuralleiste als "selbständiges Organ der Wirbeltiere mit einer Fülle morphogenetischer Leistungen" folgende Gewebeelemente differenzieren kann:

Pseudounipolare sensible Nervenzellen, multipolare sympathische Nervenzellen, chromaffine Zellen der sympathischen Paraganglien, SCHWANNsche Zellen, Mesenchymzellen, Odontoblasten, Dentin und Pigmentzellen (Abb. 4).

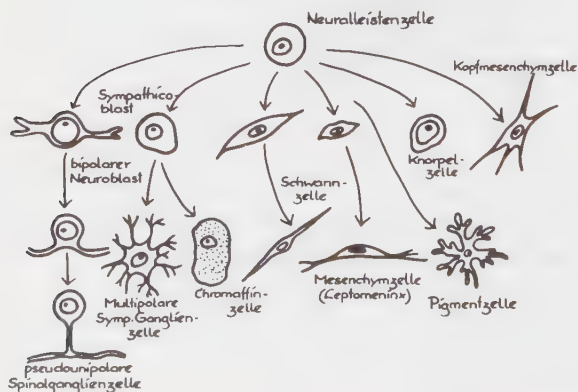


Abb. 4: Schematische Darstellung der Differenzierungsmöglichkeiten der Neuralleistenzelle (mod. nach STARCK, 1964).

Durch zahlreiche experimentelle Untersuchungen, besonders von Du SHANE (1943/ 1944), der bei jungen Urodelen im Neurulastadium, also vor Auswandern des Neuralleistenzellmaterials, die Neuralfalten entfernte, wird die Beweiskraft für die Neuralleist-Theorie geliefert. Im einzelnen ergeben sich hierbei folgende beweisende Tatsachen:

- a) Ausschaltung der Neuralleiste ergibt Pigmentlosigkeit im betroffenen Körperabschnitt.
- b) Isolate der Neuralleiste zeigen eine Pigmentierung in vitro (Gewebekultur).
- c) Transplantate von der Neuralleiste auf Keime der gleichen oder einer fremden Art rufen Pigmentzellbildung hervor. Hierbei ist zu beobachten, daß die Pigmentzellen stets in ihrem Zellcharakter die Merkmale des Spenders aufweisen.

Befunde an Säugern

Den experimentellen Beweis für die Richtigkeit der Neuralleist-Theorie bei Säugetieren erbringt RAWLES (1947) an der Maus. In seinen Versuchsreihen werden Gewebeskombinationen aus Mäuseembryonen eines stark pigmentierten homozygoten Stammes gewonnen und in d. s. Cölon weißer Leghornhühner (Bebrütungsdauer der Eier 60 - 65 Stunden) verpflanzt. Hierbei kommt es im aus-

gereiften Kükten nur dann zu einer Pigmentbildung, wenn Neuralleistenmaterial mitverpflanzt wird. Weiterhin kann bei diesen Versuchen eine Ausbreitung der Neuralleistenzellen von medial nach ventro-lateral und eine von kranial nach kaudal fortschreitende Pigmentbildungspotenz nachgewiesen werden.

Befunde an Menschen

Durch umfangreiche Untersuchungen von ZIMMERMANN (1948), ZIMMERMANN und CORNBLEET (1948), BECKER jun., FITZPATRICK und MONTGOMERY (1952) sowie ZIMMERMANN und BECKER jun. (1955, 1959) kann das Problem der Pigmentzellgenese auch beim Menschen geklärt werden. In Abweichung von den bei Tieren gebräuchlichen und geeigneten experimentellen Untersuchungen werden beim Menschen etwaige Unsicherheitsfaktoren durch verfeinerte histologische Technik sowie eine große Anzahl von Objekten ausgeglichen. Zur Untersuchung gelangten 107 Negerfeten (dritte Woche bis Geburtstermin), von denen Hautstücke aus 21 Körperregionen geprüft wurden. Zum Nachweis nicht auspigmentierter Melanoblasten wurde die Silber-salzimprägnierung durchgeführt (ROMEIS, 1948). Als Ergebnis der Untersuchungen wird von den genannten Autoren folgendes vermerkt:

Die Ausbildung der Neuralleiste erstreckt sich bis in die 6. Schwangerschaftswoche. Ab der 10. Woche sind die ersten Pigmentzellen-Vorläufer nachweisbar. Die bisher noch nicht geklärte Zeitspanne der restlichen 3 - 4 Wochen kann jedoch mit den von RAWLES (1947) erhobenen Befunden an Säugetieren überbrückt werden.

Die Vorläufer der Pigmentzellen wandern, von der Neuralleiste kommend, in die Dermis ein und zwar als erstes im Kopfgebiet. Aus der Dermis wandern dann Melanoblasten in Richtung Epidermis, um von der 11. bis 12. Woche ab in diese einzudringen. Im 5. Monat kann eine Übergabe von Pigmentgranula aus dendritischen Melanozyten an Epithelzellen nachgewiesen werden. In der Dermis erschöpft sich das Melanozytenreservoir mit Ausnahme eventueller Reste in der Sakralgegend (Mongolenfleck). Eine Pigmentbildungspotenz im Epidermisepithel ist nicht gegeben.

3. Histomorphologie und Physiologie der Pigmentzellen

a) Morphologische Untersuchungen an Pigmentzellen

Über die Morphologie der Melanoblasten berichtet ZIMMERMANN (1948) aufgrund zahlreicher, in kurzen Entwicklungsabständen durchgeführten Beobachtungen an Negerfeten, bei denen sie ab dem 3. Monat zu finden sind. Es handelt sich dabei um ovoide, fusiforme oder sternförmige Zellkörper mit zunächst nur wenigen und kurzen, polständigen Fortsätzen, deren Länge im 4. Fetalmonat etwa 100 μ beträgt. Ab Ende des 4. Monats erstrecken sich diese von ZIMMERMANN und CORNBLEET (1948) als primäre bezeichneten Fortsätze in die Interzellularräume und bilden so die Anfänge eines Synzytiums in der Epidermis. Während des 5. Fetalmonats entstehen an

den inzwischen langen Primärfortsätzen zahlreiche Sekundärfortsätze, welche sich den Epithelzellen mehr und mehr nähern und sie schließlich - hauptsächlich an ihrem distalen Pol - umgeben (KOECKE, 1959). Mit Abschluß dieser Entwicklung kommt es zur Bildung der sogenannten supranuklearen Pigmentkappe, die auch von KRÖLLING und GRAU (1960) beschrieben wird.

Über die Morphologie der Melanozyten berichtet LUND (1962), daß sie trotz ihrer Lage zwischen den Zellen der Basalschicht an ihrem hellen Plasma erkannt werden, welches frei von Tonofibrillen ist. Auch CHARLES und INGRAM (1959) sowie DROCHMANS (1960) weisen ganz besonders ausdrücklich auf das Fehlen der Tonofibrillen hin und sehen hierin eine Möglichkeit zur sicheren Differenzierung. In elektronenmikroskopischen Untersuchungen an der Haut des Menschen wird von BREATHNACH (1957), BARNICOT und BIRBECK (1958), HIBBS und WATSON (1958), WELLINGS und SIEGEL (1960), DAVID und VELHAGEN (1961) sowie BREATHNACH (1964) über den submikroskopischen Aufbau der Melanozyten wie folgt berichtet:

Die Melanozyten besitzen einen großen Kern mit einem ebenfalls großen Nukleolus, wobei die Kern - Plasma-Relation zugunsten des Kernes verschoben ist. Das Ergastoplasma ist wechselnd stark ausgebildet. Besonders hervorzuheben ist die Ansammlung von zahlreichen Bläschen und Vakuolen im vergrößerten Golgi-Feld, auf dessen Bedeutung später noch hingewiesen werden soll. In der Peripherie des Golgi-Feldes gelegene Bläschen enthalten einen deutlich sichtbaren Pigmentkern, (BRAUNSTEINER, MLCZOCH, PAKESCH, 1958) oder weisen eine Ansammlung feinsten Pigmentkörner in ihrer

Umgebung auf (STOLK, 1960). In ihrem Ausmaß wesentlich größere Pigmentkörner sind in den zytoplasmatischen Fortsätzen der Zelle zu sehen, die sich in die Interzellularräume erstrecken (LUND, 1962). Die von SNELL (1966) aufgestellte These von der Existenz dreier Untergruppen von dendritischen Zellen in der Epidermis des Meerschweinchens, nämlich:

- a) Melanozyt
- b) nichtpigmentierte Zelle, Kern ohne Granula
- c) nichtpigmentierte Zelle, Kern mit stäbchenförmigen Granula

kann nicht bestätigt werden, da es sich möglicherweise nur um jeweils verschiedene Funktionsstadien der Melanozyten handelt (WELLINGS und SIEGEL, 1963). FRANCOIS, LAGASSE und RABEAY, (1960) vertreten eine Entstehung der Melaningranula aus dem endoplasmatischen Retikulum, halten jedoch eine Umwandlung der Mitochondrien in Melaningranula für nicht ausgeschlossen.

Die Melanophagen zeichnen sich durch einen kleinen, runden bis ovalen Kern mit viel Zytoplasma aus (DAVID und VELHAGEN, 1961). Im Gegensatz zur feindispersen Verteilung des Pigmentes in den Melanozyten ist dieses bei den Melanophagen in gröberen und unregelmäßig verteilten Komplexen zusammengelagert (LUND, 1962). Ein weiterer Unterschied zu den Melanozyten besteht im Fehlen der zytoplasmatischen Fortsätze und im Ausbleiben einer positiven Dopa-Reaktion (BLOCH, 1917; MIESCHER, 1922).

b) Die intrazelluläre Synthese des Melanins

Verschiedene Zellbestandteile werden als Ursprungsort der intrazellulären Entstehung der Melaningranula angeführt.

Im einzelnen sind zu nennen: Eine Kernabstammungstheorie, eine Mitochondrientheorie und eine Golgisystem-Theorie (WEISSENFELS, 1956; BILLINGHAM und SILVERS, 1960). Eine enge biologische Beziehung zwischen Mitochondrien und Melaningranula wird aufgrund des gleichen enzymatischen Verhaltens von Du BUY, WOODS, BURK und LACKEY, 1949) und FITZPATRICK (1952) angenommen.

aufgrund zahlreicher elektronenmikroskopischer Untersuchungen von BIRBECK, MERCER und BARNICOT (1956), BRAUNSTEINER, MLCZUCH und PAKESCH (1958), BARNICOT und BIRBECK (1959), STOLK (1960) sowie WELLINGS und SIEGEL (1959, 1963) kann heute mit Sicherheit angenommen werden, daß die ersten morphologisch sichtbaren Vorstufen im Golgi-Feld entstehen. Nach Untersuchungen von WELLINGS und SIEGEL (1959, 1963) ergibt sich für die Entstehung von Melaningranula folgende Erklärung: Im Ergastoplasma erfolgt die Synthese kleinster Partikel eines Tyrosinase-reichen Proteins, die sich in den Ergastoplasmalakunen anhäufen und dann durch kontinuierlich verbundene Membranen zum Golgi-Apparat übergehen. Dort erfolgt sodann eine Konzentrierung dieser kleinsten Partikel zu Prämelaningranula, den ersten und kleinsten sichtbaren Vorstufen des Melanins mit einer Größe zwischen 25 - 40 μ m, wobei auch reifere Zwischenstufen mit einer Körchengröße von 40 - 100 μ m dargestellt werden. Eine Entstehung der Melaningranula innerhalb der zytoplasmatischen Matrix oder in den Mitochondrien kann nach WELLINGS und SIEGEL (1959) nicht angenommen werden, da keine Vorstufen zu den in diesem Bereich aufgefundenen reifen Melaningranula (100 - 400 μ m) dargestellt werden können. Jedoch wird

nicht ausgeschlossen, daß im Golgi-Apparat eine Kondensierung und Konzentrierung von in anderen Zellkomponenten produzierten löslichen Granulavorstufen zu einer Form stattfindet, die sie elektronenoptisch sichtbar werden läßt. Auch STOLK (1960) deutet diese Möglichkeit aufgrund seiner Untersuchungen an bösartigen Hautmelanomen von Fischbastarden an.

c) Der Transport des Melanins

Der Übergang des Pigmentes von den Melanozyten auf die Basalzellen der Epidermis wird von MASSON (1948) in folgender Weise beschrieben: Er bezeichnet die Melanozyten als Ambozeptoren die Substrat aus der Dermis aufnehmen, aus ihm Melanin bilden und dieses dann an die Zellen der Epidermis abgeben - ein Vorgang, den er als "Zytokrinie" bezeichnet (LUND, 1962). BIRBECK (1962) hingegen gibt den Melanozyten die Funktion einer sezernierenden Zelle, während ZIMMERMANN (1948) aufzeigt, daß sich die Enden der Melanozytenausläufer kappenartig über die Basalzellen legen und auf diese Weise als Pigmentanhäufung wahrgenommen werden.

Einen Sonderfall stellt die Pigmentabgabe an die Makrophagen dar. Neben der von MASSON (1948) beschriebenen zytokrinen Sekretion wird eine Phagozytose ganzer Pigmentgranula oder wenigsten von Bruchstücken solcher von GREENBERG, KOPAC und GORDON (1956), FELIX und DALTON (1956), GJESDAHL (1959), WELLINGS und SIEGEL (1960) sowie LUND (1962) beschrieben. BLOCH (1927) dagegen verweist auf die Möglichkeit, daß die Melanophagen die Pigmentreste in Form gelösten Melanins aufnehmen, während DAVID und VELHAGEN (1961) eine Pinozytose kleinerer Pigmentgranula für möglich halten.

4. Die Biochemie der Melaninsynthese

Untersuchungen über die biochemischen Vorgänge bei der Melaninbildung in Pflanzen, Insekten und Meerestieren zeigen, daß das Ferment Tyrosinase die Oxydation der Aminosäure l-Tyrosin - der Muttersubstanz des Melanins und des Adrenalins (KARLSON, 1966) - zu Dihydroxyphenylalanin (Dopa) katalysiert und auch bei der weiteren Oxydation des Dopa zu Melanin eine katalysierende Wirkung ausübt (RAPER, 1928).

Bei Säugetieren jedoch wurde lange Zeit die Anwesenheit der Tyrosinase verneint und deshalb angenommen, daß hier der Mechanismus der Melaninbildung ein anderer sei. Als katalysierendes Ferment wurde die Dopa-Oxydase genannt, welche zwar die Oxydation des Dopa, nicht aber die des Tyrosins katalytisch beeinflussen soll. Aufgrund dieser Annahme mag es verständlich erscheinen, wenn sich zwei Hypothesen über die Biochemie der Melanogenese entwickelten:

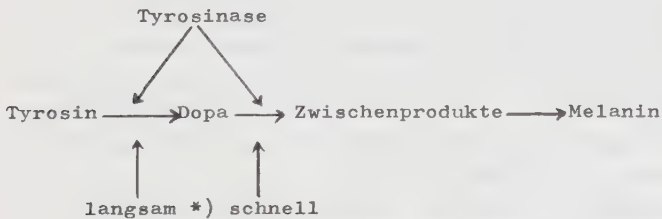
- a) Melanogenese unter Beteiligung der Tyrosinase bei Pflanzen und Insekten
- b) Melanogenese unter Beteiligung von Dopa-Oxydase bei Säugetieren.

Untersuchungen von LERNER und FITZPATRICK (1950) ergeben jedoch, daß die Unterscheidung von Tyrosinase und Dopa-Oxydase nicht aufrecht erhalten werden und somit auch nur eine Theorie über die Melanogenese bestehen bleiben kann. Anstelle der Getrennten Bezeichnungen "Dopa-Oxydase" und "Tyrosinase" schlagen die Autoren Tyrosinase als einzige Bezeichnung vor. Hervorzuheben ist dabei auch, daß sich alle Tyrosinasen, gleich welcher Herkunft, durch einheitliches biochemisches

Verhalten auszeichnen, nämlich:

- a) durch die Katalysierung der Oxydation des Tyrosins zu Melanin und
- b) durch die Kupferkomponente im Ferment, die für die enzymatische Aktivität in jedem Falle erforderlich ist.

Bei der Reaktion zwischen Tyrosin und Tyrosinase in Anwesenheit von Sauerstoff ist nach den Beobachtungen von LERNER, FITZPATRICK und SUMMERSON (1949) eine Verzögerung bis zur einsetzenden Oxydation des Tyrosins festzustellen, welche von den Autoren als Induktionsperiode bezeichnet wird. Durch geringe Zugaben von Dopa kann diese Induktionsperiode wirkungsvoll verkürzt werden (siehe Schema):(LERNER, FITZPATRICK, SUMMERSON, CALKINS 1949).



*) = Induktionsperiode, kann durch Zugabe kleiner Mengen Dopa erheblich beschleunigt werden.

Bei einer Verwendung von Dopa selbst als Ersatz von Tyrosin gibt es keine Induktionsperiode. Übereinstimmend stellen BALDWIN (1957), LUND (1962) und KARLSON (1966) fest, daß das über die Zwischenstufe Dihydroxyphenylalanin

(Dopa) entstehende Dopa-Melanin das Endprodukt verschiedener komplexer Polymerisationsvorgänge ist. Die tatsächliche Entstehung des Melanins in den Melanoblasten hängt dabei von der Konzentration folgender dreier Substanzen ab (LERNER und FITZPATRICK, 1950):

- a) dem Kupfer-Proteinkomplex Tyrosinase
- b) dem Substrat Tyrosin oder Dopa
- c) dem molekularen Sauerstoff.

Das Fehlen einer dieser Faktoren verhindert grundsätzlich jegliche Melaninbildung.

Das Zusammenwirken dieser 3 Grundsubstanzen wird durch verschiedene physikalisch-chemische Faktoren reguliert, die dadurch die Menge der Melaninproduktion bestimmen (LERNER und FITZPATRICK, 1959; LERNER und CASE, 1959):

- a) eine katalytische Substanz, meist Dopa, die die Tyrosin-Tyrosinase-Reaktion beschleunigen kann (siehe Seite 19),
- b) normalerweise in der Epidermis anzutreffende chemische Gruppen, welche die kupferhaltigen Fermente hemmen, z.B. Sulfhydryl-Gruppen (LORINCZ, 1950),
- c) physikalisch-chemische Faktoren, wie Temperatur, pH-Wert und Redoxpotential.

Auf der Ausgewogenheit dieser verschiedenen Kräfte beruht die von den Zellen produzierte Melaninmenge.

5. Die hormonelle Beeinflussung der Melanogenese

Wertvolle Grundlagen in der Erforschung der endokrinen Beeinflussung der Melanogenese schafft CHAVIN (1959) durch seine umfangreichen Versuchsserien am Goldfisch

(*Carassius auratus* L.). Dabei gelangen nach den Angaben des Autors nur rein gelbe Tiere zum Versuch - Fische also, die vorher keine dermalen Melanozyten enthalten und bei denen folglich ein Sichtbarwerden des Pigmentes auf neugebildeten Melanozyten nach der Behandlung beruht.

Übereinstimmend mit den Aussagen von LERNER und CASE (1959), SPAAR und WILLE (1959) und REIFENSTEIN (1961) weist CHAVIN (1959) auf die Bedeutung der Hypophyse bei der Bildung des Melanins hin:

In seinen Experimenten stellt sich bei den in 0,7%ige Kochsalz-Lösung verbrachten rein gelben Fischen schon nach kurzer Zeit (3 - 5 Tage) als Antwort auf die durch das veränderte Milieu gegebene Stresssituation die Melanogenese ein, während die hypophysektomierten Tiere diese Reaktion nicht zeigen; jedoch kann bei diesen Tieren der zweiten Gruppe nach Implantation von Hypophysenmaterial der selbe Effekt dargestellt werden. Die die Melanogenese stimulierende Wirkung der Hypophyse (oder eines der untergeordneten Organe der Hypophyse) ist damit eindeutig erwiesen.

Keine Beeinflussung dagegen erfährt die Melanogenese durch verminderte oder vermehrte Zufuhr von Gonadotropinen oder Sexualhormonen. Dies wird von CHAVIN (1959) einerseits durch Verwendung von Versuchstieren in jeweils verschiedenen geschlechtlichen Entwicklungsstadien bewiesen, zum anderen zeigt aber auch eine direkte Behandlung der Versuchstiere mit FSH, LH, Choriongonadotropin oder Gonadotropin, aus dem Serum trächtiger Stuten gewonnen, keine nachfolgende Melanogenese. Auch ITO (1952) weist auf das Ausbleiben der Melanogenese nach Injektion von Testosteron und Progesteron hin, während er eine Beeinflussung durch Östradiol für möglich hält.

Hingegen stimmt ITO (1952) den Versuchsergebnissen von CHAVIN (1956) zu, wenn er auf die fehlende Stimulierung durch Thyroxin oder Thyreotropin hinweist. Als einziges, die Melanogenese direkt beeinflussendes Hormon wird schließlich von CHAVIN (1959) das adrenokortikotrope Hormon der Hypophyse (ACTH) ermittelt. Besonders muß hierbei erwähnt werden, daß es sowohl bei Fischen mit, als auch bei solchen ohne Hypophyse die Melanogenese anregt.

Histologisch sind hierbei zuerst vereinzelte kleine Melaningranula zu beobachten, denen dann eine Massierung derselben folgt, die schließlich zur makroskopisch wahrnehmbaren Dunkelfärbung des vorher rein gelben Fisches führt. Ein Vergleich zwischen bereits vorhandenen Pigmentzellen bei grauen oder schwarzen Fischen und den neugebildeten bei ursprünglich rein gelben Tieren manifestiert eine Ähnlichkeit zwischen beiden sowohl morphologisch als auch funktionell.

Als Ursprungsort des die Melanogenese anregenden Hormones konnte von CHAVIN (1959) durch chirurgische Experimente die pars distalis und/oder tuberalis der Hypophyse ermittelt werden, während die pars intermedia das die Verteilung des Melanins regulierende Hormon Intermedin produziert, das allein jedoch über keine die Melanogenese anregenden Eigenschaften verfügt, während umgekehrt das ACTH - wenn auch nur in sehr geringem Maße - die Verteilung des Melanins mit beeinflussen kann.

III. E i g e n e U n t e r s u c h u n g e n

1. Material

Zur Untersuchung kamen insgesamt 90 Hunde beiderlei Geschlechts. Die Tiere gehörten verschiedenen Rassen an. Ihr Alter erstreckte sich von 8 Wochen bis zu 16 Jahren. Die Auswahl erfolgte ohne Berücksichtigung der Vorberichte; ein Großteil der Hunde war nach Einschläferung in der Medizinischen Tierklinik ohne Sektionsantrag dem Institut übergeben worden.

2. Methodik

Zur Darstellung der pigmentbildenden Melanoblasten wurde die Dopa-Reaktion nach BLOCH (1917), modifiziert nach LAIDLAW und BLACKBERG (1932) angewandt. Eine systematische Untersuchung von insgesamt 6 Hautstückchen aus nachstehend bezeichneten Körperregionen wurde bei 68 Hunden vorgenommen. Die restlichen 22 Hunde dienten zur Durchführung der Vorversuche, die die günstigsten Stellen für die Entnahme der Proben zeigen sollten, außerdem wurden hierbei verschiedene Färbetechniken erprobt. Die zur Untersuchung verwendeten Hautproben stammten aus folgenden Körperregionen:

- a) aus dem Nasenspiegel
- b) aus dem freien Rand der Oberlippe
- c) aus der ventralen Halsgegend
- d) aus dem Unterbauch in der Regio umbilicalis

- e) aus dem Skrotum bzw. bei weiblichen Tieren aus der Vulva
- f) aus der Perianalgegend

Die bezeichneten Proben wurden unmittelbar nach dem Tode des Tieres entnommen, d.h. maximal eine Stunde post mortem, da sich andernfalls das eventuell vorhandene Ferment durch Diffusion ins umgebende Gewebe verteilt und dann nicht mehr nachgewiesen werden kann. Nach kurzer Fixation (bis zu einer Stunde) in Formalin 1 : 7 oder ohne vorherige Fixierung wurden mit dem Gefriermikrotom Schnitte in einer Dicke von 15 - 20 μ angefertigt. Da jede Spur von Säure die Reaktion verzögert bzw. verhindert, werden die Schnitte mit einem Pinsel oder Glasstab abgenommen und sodann in der gebrauchsfertigen Lösung aufgefangen. Die Lösung setzt sich zusammen:

- a) aus der Dopa-Stammlösung, einer 1%igen Lösung von L-3 (3,4-Dihydroxy-phenyl)-alanin (= L-Dopa)
- b) aus den Pufferlösungen:
 - 1. Na-Puffer: 11 g Na_2HPO_4 gelöst in 1000 ml A.d.
 - 2. K -Puffer: 9 g KH_2PO_4 gelöst in 1000 ml A.d.

Die gebrauchsfertige Lösung, die jeweils erst kurz vor der Reaktion angefertigt wird, erhält man durch Mischen von 25 ml der Stammlösung mit 6 ml Na-Puffer und 2 ml K-Puffer. Der pH-Wert dieser Mischung beträgt 7,4. Durch Weglassen des K-Puffers erhält man einen pH-Wert von 8,2 und kann durch dieses leicht basische Milieu die Reaktion wesentlich beschleunigen. Im Brutschrank bei 37° C dauert dann die Reaktion statt 4 - 5 Stunden nur etwa eine Stunde.

Das Ende der Reaktion ist daran zu erkennen, daß die ursprünglich farblose Gebrauchslösung eine sepiafarbene Tönung angenommen hat. Zu diesem Zeitpunkt, der - um ein Überfärben der Schnitte zu vermeiden - unter keinen Umständen versäumt werden darf, werden die Schnitte aus der Lösung genommen und gegengefärbt.

Färbung

Entgegen den Angaben zahlreicher Autoren hat sich nach vielen Versuchen eine Gegenfärbung nach Giemsa als beste und anschaulichste Färbemethode erwiesen. Die nicht in der Dopa-Lösung inkubierten Kontrollschnitte wurden mit Haemalaun-Eosin und nach Giemsa gefärbt. In den inkubierten Schnitten treten nach der Inkubation die fermentaktiven Melanoblasten schwarzbraun hervor, präformiertes Melanin dagegen ist vor und nach der Inkubation in gleicher Weise sichtbar (Abb. 5 - Abb. 16).

3. Ergebnisse der eigenen Untersuchungen

Bei den tabellarisch erfaßten 68 Hunden konnte nur bei 5 Tieren keine positive Dopa-Reaktion ermittelt werden, d.h., in diesen Fällen fehlten bei sämtlichen 6 Proben Dopa-positive Melanoblasten.

In 11 Fällen waren in den Proben aller 6 Lokalisationen Dopa-positive Melanoblasten nachweisbar.

Die Verteilung dieser Dopa-positiven Melanoblasten war entweder diffus oder herdförmig, mitunter auch

gehäuft um die Wurzeln von Haarbälgen oder um Drüsenlumina. Auffallend ist das Verhältnis von Dopa-positiven Zellen in der Epidermis zu solchen in der Dermis insofern, als in der Dermis weitaus häufiger und intensiver Dopa-positive Melanoblasten wahrgenommen wurden als in der Epidermis.

Innerhalb der einzelnen Fälle wiesen die aus der analgegend entnommenen Hautproben die stärkste Dopa-Aktivität auf: Von den 68 Fällen konnte bei 56 eine positive Dopa-Reaktion an dieser Stelle ermittelt werden.

Die weitere Reihenfolge in der Häufigkeit der Dopa-positiven Reaktionen ergibt sich dann wie folgt (In Klammern jeweils die Anzahl der Fälle):

1. Analgegend	(56)
2. Oberlippe	(51)
3. Genitalregion	(44)
4. ventrale Halsgegend	(39)
5. Unterbauch	(33)
6. Nasenspiegel	(31)

Auch nach Einteilung der Hunde in drei Altersgruppen wurde dieses Bild nur geringfügig verändert:

Gruppe I : 12 j u n g e Hunde (8 Wochen bis 3 Jahre)

Probe:	Anzahl der Fälle:
a	5
b	10
c	8
d	8
e	8
f	8

Gruppe II : 35 Hunde m i t t l e r e n Alters (4 - 8 Jahre)

Probe:	Anzahl der Fälle:
a	15
b	25
c	21
d	19
e	27
f	27

Gruppe III: 21 a l t e Hunde (9 - 16 Jahre)

a	6
b	16
c	10
d	6
e	9
f	11

Eine Beziehung zwischen Dopa-positiven Reaktionen und anderen Faktoren wie Alter, Geschlecht, Rasse oder Haarfarbe konnte nicht gefunden werden. Auch eine bereits makroskopisch wahrnehmbare starke Pigmentierung der Haut stand in keinerlei Zusammenhang mit einer positiven Dopa-Reaktion, während andererseits makroskopisch helle Hautstellen häufig fermentative Melanoblasten aufwiesen. Auch die Jahreszeit der Probeentnahme zeigte keinen Einfluß auf das Ergebnis der Dopa-Reaktion. Zur Untersuchung gelangten auch 9 Hunde mit makroskopisch wahrnehmbaren Hautveränderungen. Im einzelnen wurden diagnostiziert und durch mikroskopische Betrachtung

als bestätigt gefunden (In Klammern jeweils die fortlaufende Nummer des Falles):

- (30) Generalisierte Seborrhoe
- (34) Alopezie mit Hyperpigmentierung der Haut
- (36) Retikulosarkom mit Erythrophagozytose in der Unterhaut
- (39) Multiple Pigmentnaevi und erbsengroßes Melanom
- (40) Hyperpigmentierung an Bauch und Skrotum
- (41) bis erbsengroße Melanome im Thorakalbereich
- (42) Generalisierte Pyodermie und Pachydermie
- (47) Seborrhoe im Halsbereich
- (72) Pyodermie mit generalisierter Seborrhoe

Eine Beeinflussung der Pigmentbildungsaktivität durch die genannten Hautveränderungen konnte weder im positiven noch im negativen Sinne ermittelt werden. Auch die Melanome bildeten hierbei keine Ausnahme. Da es sehr schwierig ist, einen Unterschied vor und nach der Inkubation im Zentrum des Melanoms hinsichtlich der Pigmentierung wahrzunehmen, mußten sich die Beobachtungen vornehmlich auf die Randzone stützen. Hierbei aber konnte keine Abweichung von den sonst gemachten Ermittlungen festgestellt werden.

Bei 13 weiteren Fällen war die Haut makroskopisch unverändert und erst im histologischen Schnitt wurden Hautveränderungen manifest. In der Mehrzahl der Fälle handelt es sich hierbei um lympho-histiozytäre Infiltrate besonders in der Ano-Genitalregion, die sich aus der besonderen mechanischen Beanspruchung durch die den Hunden eigene Art des Sitzens ergeben. Nur in wenigen Fällen kam es hierbei auch zu granulozytären Infiltraten. Gemeinsam ist jedoch auch bei all diesen mikroskopisch wahrnehmbaren Veränderungen festzustellen, daß eine

Beeinflussung der Dopa-Reaktion nicht gegeben war.

Erläuterung zu den folgenden Tabellen

Die gegengefärbten Präparate wurden mikroskopisch untersucht und ihr Pigmentgehalt vor und nach der Inkubation visuell geschätzt. Dabei wurde folgende Einteilung getroffen:

++++	sehr starke Pigmentierung
+++	starke Pigmentierung
++	mittelstarke Pigmentierung
+	mäßige Pigmentierung
(+)	sehr schwache Pigmentierung
-	fehlende Pigmentierung

Neben der Angabe der Haarfarbe wurde bei jeder entnommenen Probe auch die Hautfarbe bzw. deren Schattierung festgestellt. Dabei wurde unterschieden zwischen schwarz, dunkel und hell. Übergänge wurden durch Aneinanderreihen der entsprechenden Bezeichnungen dargestellt, z.B. hell/dunkel etc. Die Nummerierung der Proben von a bis f stimmt mit der Angabe auf Seite 23/24 überein. Die abgekürzte Tabellentüberschrift "Pigm. v. d. bzw. n.d. Inkubat." bedeutet "Pigmentierung vor bzw. nach der Inkubation".

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion	
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	Epid.	Derm.
23	Schäfer- hund	m.	8 J.	-	schwarz	++	++	+++	++	-	-
				schwarz	schwarz	++	-	+++	++	+	++
				grau	hell	-	-	-	++	-	++
				grau	hell	-	-	-	+++	-	+++
				schwarz	schwarz	++	++	++	+++	-	++
				-	dunkel	+	-	+	++	-	++
24	Mittel- schnauzer	w.	12 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-	-
				grau	dunkel	++	-	++	-	-	-
				dunkelgrau	hell-dunkel	+	-	+	-	-	-
				hellgrau	hell-dunkel	++	-	++	-	-	-
				grau	dunkel	+++	+	+++	+	-	-
				braun-grau	dunkel	++	-	++	-	-	-
25	Rott- weiler	m.	8 J.	-	schwarz	++	++	++	+++	-	+
				schwarz	hell	++	-	++	+	-	+
				braun	hell	-	-	-	+++	-	+++
				hellbraun	hell	-	-	-	+++	-	+++
				schwarz	dunkel	+	-	+	+++	-	+++
				braun	hell	+	++	+	++	-	-

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion	
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	Epid.	Derm.
44	Schäferhund	w.	3 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-	-
				grau	dunkel	++	++	++	+++	-	+++
				hellbraun	hell	-	-	-	+++	-	+++
				hellbraun	schwarz	++	-	++	+++	-	+++
				grau	dunkel	+	+	+	+++	-	++
				-	dunkel	++	+	++	+++	-	++
45	Bastard	w.	7 J.	-	dunkel	+	++	++	++	+	-
				grau	dunkel	+	+	++	++	+	+
				weiss	hell	-	-	-	+	-	+
				weiss	hell	-	-	+	++	+	++
				braun	dunkel	-	+	-	+++	-	++
				braun	dunkel	-	-	-	+	-	+
46	Schäferbastard	m.	13 J.	-	schwarz	++	-	++	+	-	+
				hellbraun	schwarz	++	++	++	+++	-	+
				gelbbraun	hell	-	-	-	+++	-	+++
				weiss	dunkel	+	-	+	+++	-	+++
				schwarz	hell	++	+++	++	+++	-	+
				gelbbraun	dunkel	-	+	-	++	-	+

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion	
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	Epid.	Derm.
47	Mittel-pudel	m.	7 J.	-	schwarz	++	-	++	++	-	++
				schwarz	schwarz	+++	-	+++	+	-	+
				schwarz	dunkel	-	-	-	+++	-	+++
				schwarz	dunkel	+	-	+	+++	-	+++
				schwarz	schwarz	++	++	++	+++	-	+
				schwarz	dunkel	+	-	+	+	-	+
48	Schäfer-hund	m.	8 J.	-	schwarz	++	++	++	++	+	-
				grau	schwarz	++	-	++	+	-	+
				hellgrau	hell	-	-	-	+	-	+
				hellgrau	dunkel	-	-	-	++	-	++
				gelbbraun	schwarz	+	+	++	++	+	+
				gelbbraun	dunkel	-	-	-	(+)	-	(+)
49	Spitz	w.	7 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-	-
				schwarz	schwarz	-	++	-	++	-	-
				schwarz	hell	-	-	-	-	-	-
				schwarz	dunkel	+	+	+	+	-	-
				schwarz	dunkel	-	+	-	++	-	++
				schwarz	dunkel	+	++	+	++	-	-

Lfd. Nr.	Rasse, Geschl., Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergab.d. Dopa-Reaktion	
				Epid. Derm.	Derm.	Epid. Derm.	Derm.	Epid. Derm.	Derm.
32	Sakfer- hund m. 8 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-	-
		schwarz	dunkel	++	+	++	+++	-	++
		schwarz	dunkel	+	-	+	+++	-	+++
		schwarz	dunkel	-	-	+	+++	+	+++
		schwarz	schwarz	++	++	++	+++	-	++
		braun	dunkel	+	+	+	++	-	++
33	Kurthaar- daedel w. 2 J.	-	schwarz	++	++	++	++	-	-
		schwarz	dunkel	+	+	+	+	-	-
		schwarz	dunkel	+	+	+	+	-	-
		schwarz	dunkel	+	-	+	+	-	+
		schwarz	dunkel	+	-	+	+++	-	+++
		schwarz	dunkel	+	-	+	-	-	-
34	Foxterrier m. 10 J.	-	schwarz	++	+	+++	+	+	-
		hellgrau	hell	+	-	++	-	+	-
		hellgrau	hell	+	-	+	-	-	-
		hellgrau	dunkel	+	-	+	-	-	-
		hellgrau	schwarz	+	++	+	++	-	-
		hellgrau	dunkel	++	-	++	-	-	-

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion	
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	Epid.	Derm.
35	Schäfer- hund	m.	11 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-	-
				grau	dunkel	++	+	++	++	-	+
				weiss	hell	-	-	-	++	-	++
				weiss	dunkel	+	-	+	-	-	-
				weiss	schwarz	++	++	++	+++	-	+
				-	dunkel	-	-	-	+	-	+
36	Iriseher Setter	m.	4 J.	-	schwarz	++	+	+++	+	+	-
				rotbraun	dunkel	+	-	+	-	-	-
				rotbraun	hell	-	-	-	-	-	-
				rotbraun	hell	-	-	-	-	-	-
				schwarz	dunkel	+	-	++	+	+	+
				braun	dunkel	-	-	-	+	-	+
37	Schäfer- hund	m.	8 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-	-
				schwarzgrau	dunkel	++	+	++	+	-	-
				hellgrau	hell	-	-	-	-	-	-
				hellgrau	hell	-	-	-	-	-	-
				hellgrau	schwarz	++	++	++	++	-	-
				braun	dunkel.	+	-	+	+	-	-

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	
38	Spitz- bastard	w.	?	-	braun	+++	++	+++	++	-
				braun	dunkel	-	-	++	+	++
				grauweiss	hell	-	-	-	-	-
				grauweiss	hell	-	-	-	+++	+++
				weiss	hell	-	-	-	++	++
				weiss	hell	-	-	++	+++	+++
39	Kurzhaar- dackel	m.	11 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-
				dunkelbraun	dunkel	+	-	+	-	-
				dunkelbraun	hell	-	-	-	-	-
				dunkelbraun	hell	+	-	+	-	-
				dunkelbraun	dunkel	++	++	++	++	-
				dunkelbraun	dunkel	-	+	-	+	-
40	Spitz	m.	6 J.	-	schwarz	+	-	+++	-	++
				weiss	dunkel	++	-	++	+	+
				weiss	hell	-	-	-	-	-
				weiss	hell-dunkel	-	-	-	-	-
				weiss	hell-dunkel	+	++	+	+++	+
				weiss	dunkel	-	-	-	+	+

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion	
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	Epid.	Derm.
41	Kurzhaar- dackel	m.	15 J.	-	dunkel	+	+	+++	+	++	-
				grau	dunkel	+	-	++	+	+	+
				braun	dunkel	-	-	-	-	-	-
				braun	dunkel	+	+	+	++	-	+
				braun	schwarz	++	+	++	+	-	-
				braun	dunkel	+	-	+	+	-	+
42	Schäfer- hund	m.	11 J.	-	schwarz	++	+	+++	++	+	-
				grau	dunkel	+	++	+	+++	-	+
				braun	dunkel	+	+	+	++	-	+
				grau	dunkel	+	-	+	+++	-	+++
				grau	schwarz	+	++	+	+++	-	++
				grau	dunkel	+	++	+	+++	-	+
43	Langhaar- dackel	m.	9 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-	-
				braun	dunkel	++	++	++	+++	-	+
				braun	hell	-	-	-	+	-	+
				braun	dunkel	+	-	+	-	-	-
				braun	schwarz	+++	+++	+++	+++	-	-
				braun	dunkel	-	-	-	-	-	-

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion	
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	Epid.	Derm.
26	Langhaar- daekel	m.	3 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-	-
				braun	schwarz	++	+	++	+	-	-
				braun	hell	-	-	-	-	-	-
				braun	hell	+	-	+	-	-	-
				hell	dunkel	+	-	+	-	-	-
				braun	dunkel	+	-	+	+	-	+
27	Reh- pinscher	w.	5 J.	-	schwarz	+	+	+++	+	++	-
				schwarz	dunkel	-	-	+	++	+	++
				dunkelbraun	hell	-	-	-	-	-	-
				dunkelbraun	hell	-	-	-	-	-	-
				dunkelbraun	dunkel	-	-	-	-	-	-
				dunkelbraun	dunkel	-	-	-	++	-	++
28	Spitz- bastard	m.	10 J.	-	schwarz	++	+++	+++	+++	-	-
				braun	dunkel	++	-	++	+	-	++
				schwarz	hell	-	-	-	-	-	-
				schwarz	hell	-	-	-	+	-	+
				schwarz	schwarz	++	++	++	++	-	-
				-	dunkel	-	-	-	-	-	-

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion	
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	Epid.	Derm.
29	Schäferhund	m.	7 J.	-	schwarz	+++	+	+++	+	-	-
				grau-schwarz	dunkel	+++	++	+++	++	-	-
				grau	hell	-	-	-	+	-	+
				grau	hell	-	-	-	+	-	+
				schwarz	dunkel	++	++	++	++	-	-
				-	dunkel	-	-	-	++	-	++
30	Spaniel-bastard	m.	13 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-	-
				schwarz	dunkel	++	+	++	++	-	+
				schwarz	hell	-	-	-	-	-	-
				schwarz	dunkel	++	+	++	+	-	-
				schwarz	schwarz	+++	+++	+++	+++	-	+
				braun	dunkel	+	+	+	+	-	-
31	Schäferhund	w.	9 J.	-	schwarz	++	+++	++	+++	-	-
				schwarz	schwarz	-	+	-	+	-	-
				schwarz	hell	-	+	-	+	-	-
				schwarz	dunkel	+	-	+	-	-	-
				schwarz	hell	+	-	+	-	-	-
				schwarz	dunkel	-	-	-	-	-	-

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl., Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion
					Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	
50	Rauhhaardackel	m. 7 J.	-	schwarz	++	+	++	+++	+++
			braun	dunkel	++	+	++	++	+
			braun	hell	-	-	-	++	++
			braun	dunkel	++	-	++	++	++
			braun	schwarz	+++	+++	+++	+++	+
			braun	dunkel	++	++	++	++	-
51	Mittelpudel	w. 8 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-
			schwarz	schwarz	++	+	++	+++	++
			schwarz	hell	-	-	-	++	++
			schwarz	hell	-	-	-	+	+
			schwarz	schwarz	++	+	++	+++	++
			schwarz	dunkel	++	+	++	+++	++
52	Scottishterrier	m. 13 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-
			schwarz	schwarz	++	+	+++	+++	++
			schwarz	dunkel	++	+	++	+++	+++
			schwarz	dunkel	++	-	++	+++	++
			schwarz	schwarz	++	++	++	++	-
			schwarz	dunkel	++	++	++	++	-

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion	
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	Epid.	Derm.
53	Langhaardackel	w.	8 W.	-	schwarz	++	+	+++	+	+	-
				braun	dunkel	++	+	++	+++	+	+
				braun	hell	-	-	-	++	-	++
				braun	hell	+	-	+	+	-	+
				braun	hell	-	-	+	++	+	++
				braun	hell	+	+	++	++	+	+
54	Schäferhund	m.	7 J.	-	schwarz	+++	++	+++	++	-	-
				schwarz	dunkel	++	-	++	-	-	-
				grauschwarz	hell	-	+	-	+	-	-
				grauschwarz	dunkel	+	-	+	++	-	++
				grauschwarz	schwarz	++	++	++	+++	-	+
				braun	dunkel	-	-	-	++	-	++
55	Schäferhund	w.	4 J.	-	schwarz	++	++	++	++	-	-
				schwarz	dunkel	+	-	++	+++	-	+++
				hellbraun	hell	-	-	-	++	-	++
				hellbraun	hell/dunkel	-	-	-	+++	-	+++
				braun	dunkel	-	-	-	+++	-	+++
				-	dunkel	-	-	-	+++	-	+++

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion	
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	Epid.	Derm.
56	Schäferhund	m.	6 J.	-	schwarz	++	++	+++	++	+	-
				schwarz	schwarz	++	++	++	++	-	-
				hellbraun	hell	-	-	-	-	-	-
				grau	dunkel	++	-	++	-	-	-
				weiss	schwarz	++	++	++	++	-	-
				-	dunkel	++	++	++	++	-	-
57	Dackel-bastard	w.	14 J.	-	schwarz	++	++	++	+++	-	++
				schwarzgrau	dunkel	++	+	++	+++	-	++
				schwarz	hell	-	-	-	+++	-	+++
				schwarz	dunkel	+++	+++	+++	+++	-	-
				schwarz	dunkel	++	++	+++	+++	+	+
				schwarz	dunkel	+	-	+	+	-	+
58	Schäferhund	w.	3 J.	-	schwarz	++	+	++	+	-	-
				schwarz	schwarz	++	+	+++	+	+	++
				grau	hell	-	-	-	-	-	-
				grau	hell	-	-	-	-	-	-
				grau	dunkel	+	-	+	+	-	+
				grau	dunkel	-	-	-	-	-	-

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion	
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	Epid.	Derm.
59	Chow-Chow	F.	8 J.	-	schwarz	++	++	++	++	-	-
				schwarz	schwarz	++	+	++	+++	-	++
				schwarzbraun	hell	-	-	-	+	-	+
				dunkelbraun	hell	-	-	-	++	-	++
				schwarz	schwarz	++	++	++	+++	-	+
				-	dunkel	-	-	-	+	-	+
60	Collie	W.	8 M.	-	schwarz	++	+	+++	+	+	-
				braun	schwarz	+	+	++	++	+	+
				weiss	hell	-	-	-	++	-	++
				weiss	hell	-	-	-	-	-	-
				braun	dunkel	-	-	-	+++	-	+++
				braun	dunkel	-	-	-	++	-	++
61	Rauhhaardackel	W.	9 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-	-
				braun	dunkel	++	++	++	+	-	-
				hellbraun	hell	-	-	-	-	-	-
				hellbraun	dunkel	+	-	+	-	-	-
				braun	dunkel	++	++	++	++	-	-
				braun	dunkel	+	-	++	++	+	++

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl., Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion
					Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	
62	Schäfer- bastard	m. 1 J.	-	schwarz	++	+	+++	+	-
			schwarz	schwarz	+	+	+++	-	-
			schwarz	hell	-	-	-	++	++
			schwarz	dunkel	-	-	-	++	++
			schwarz	dunkel	++	++	++	+++	+
			schwarz	dunkel	-	-	-	++	++
63	altd. Schäfer- hund	m. 8 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	-	-
			grau	schwarz	++	-	++	-	-
			grau	hell	-	-	-	++	++
			grau	hell/dunkel	-	-	-	++	++
			schwarz	schwarz	++	+++	++	+++	-
			braun	dunkel	+	-	++	++	++
64	Schäfer- hund	m. 2 J.	-	schwarz	++	++	+++	+	-
			schwarz	schwarz	++	+	++	+++	++
			grau	hell	-	-	-	(+)	(+)
			weiss	hell/dunkel	+	-	+	+++	+++
			grau	hell	++	++	++	++	-
			braun	dunkel	-	+	-	+++	++

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	
65	Mittel-pudel	w.	5 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	++	-
				schwarz	schwarz	++	++	++	+++	-
				schwarz	hell	-	-	-	-	-
				schwarz	hell/dunkel	++	-	++	++	-
				schwarz	schwarz	++	++	++	+++	-
				schwarz	dunkel	+	-	+	+	-
66	Schäfer-bastard	w.	7 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-
				grau	schwarz	++	+	++	++	-
				weiss	hell	-	-	-	+	-
				weiss	dunkel	+	-	+	-	-
				weiss	schwarz	++	-	++	++	-
				braun	dunkel	+	-	+	++	-
67	Bastard	m.	8 J.	-	schwarz	+	+++	+++	+++	+
				grau	schwarz	++	+++	++	+++	-
				weiss	dunkel	++	-	++	-	-
				weiss	dunkel	+	-	+	++	-
				weiss	schwarz	++	-	++	+++	-
				weiss	hell	+	+	+	++	+

Irid. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa- Reaktion	
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	Epid.	Derm.
68	Langhaar- deckel	w.	14 J.	-	schwarz	+++	++	+++	++	-	-
				rotbraun	schwarz	++	+	++	+++	-	++
				rotbraun	hell	+	-	+	++	-	++
				rotbraun	hell/dunkel	+	-	+	+++	-	+++
				rotbraun	dunkel	-	+	-	+++	-	+++
				rotbraun	dunkel	-	+	-	++	-	+
69	Schäfer- bestard	m.	12 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-	-
				schwarzgrau	schwarz	++	++	++	++	-	-
				braunschwarz	hell	-	-	-	-	-	-
				braunschwarz	hell/dunkel	-	-	-	-	-	-
				grau	dunkel	+	+	+	+	-	-
				hellgrau	hell	+	+	+	+	-	-
70	Schäfer- hund	w.	8 M.	-	schwarz	+++	+	+++	+	-	-
				schwarz	schwarz	+	+	+	++	-	+
				grau	hell	-	-	-	++	-	++
				grau	hell/dunkel	-	-	-	+	-	+
				schwarz	dunkel	-	-	-	++	-	+
				braun	dunkel	-	+	-	+	-	-

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion	
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	Epid.	Derm.
71	Schäferhund	m.	8 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-	-
				grau	schwarz	++	++	+++	+++	+	+
				weiss	hell	+	-	+	+++	-	+++
				weiss	hell	-	-	-	+++	-	+++
				weiss	dunkel	+	+++	++	+++	-	+
				grau	dunkel	+	+	+	++	-	+
72	Bauhau- daekel	w.	2 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-	-
				braun	hell	++	-	++	++	-	++
				grau	hell	-	-	-	++	-	++
				grau	hell/dunkel	-	+	-	+	-	-
				schwarz	dunkel	+	-	++	+	-	++
				braun	dunkel	+	-	++	+	-	++
73	Mittel- pudel	m.	3 J.	-	schwarz	+++	++	+++	++	-	-
				schwarz	hell	++	-	++	++	-	++
				schwarz	hell	-	+	-	+	-	-
				schwarz	hell	-	-	-	-	-	-
				schwarz	hell	-	-	-	-	-	-
				schwarz	hell	+	+	++	++	+	+

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion	
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	Epid.	Derm.
74	Spitz- bastard	m.	4 J.	-	schwarz	++	++	++	+	-	-
				grün	schwarz	++	+	++	++	-	+
				grün	hell	-	-	-	++	-	++
				grün	hell / dunkel	-	-	-	-	-	-
				grün	dunkel	++	+	++	++	-	++
				br. gelb	hell	-	-	+	+	+	+
75	Rauhhaar- dackel	m.	14 J.	-	schwarz	+	+++	+	+++	-	-
				braun	schwarz	-	-	++	-	-	-
				hellbraun	hell	-	-	+	+	+	+
				br. / schwarz	hell	-	-	-	-	-	-
				br. gelb	schwarz	++	+++	+	++	-	-
				br. gelb	hell	+	+	+	++	-	-
76	Schäfer- bastard	w.	6 J.	-	schwarz	+	+	+	+	+	+
				schwarz	schwarz	+	+	++	+	-	+
				schwarz	hell	-	-	-	+	-	+
				schwarz	hell	-	-	-	++	-	++
				schwarz	hell	-	-	-	+	-	+
				schwarz	hell	+	+	+	+	-	+

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion	
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	Epid.	Derm.
77	Daekel-bastard	w.	13 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-	-
				grau	schwarz	++	-	++	+	-	+
				hellgrau	hell	-	-	-	-	-	-
				grau	dunkel	+	-	+	-	-	-
				braun	dunkel	++	++	++	+++	-	+
				hellbraun	dunkel	++	-	++	++	-	+
78	Langhaar-daekel	m.	8 J.	-	schwarz	+++	+	+++	+	-	-
				rotbraun	dunkel	+	+	++	+	+	-
				rotbraun	hell	-	-	-	-	-	-
				rotbraun	dunkel	+	-	+	-	-	-
				rotbraun	schwarz	+	+	+	+	-	-
				rotbraun	dunkel	-	-	-	-	-	-
79	Pinscher-bastard	w.	16 J.	-	schwarz	+++	+	+++	+	-	-
				weiss	dunkel	++	+	++	+++	-	++
				weiss	hell	-	-	-	+	-	+
				grau	dunkel	-	-	-	+	-	+
				grau	dunkel	+	+	+	+++	-	++
				braun	hell	++	+	++	++	-	+

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	
80	Schäferhund	m.	10 J.	-	schwarz	+++	++	+++	++	-
				grauschwarz	dunkel	++	-	+++	-	+
				grauschwarz	hell	-	-	-	++	++
				weiss	hell	-	-	-	-	-
				hellgrau	schwarz	+++	+++	+++	++	-
				grau	dunkel	-	-	-	(+)	(+)
81	Wachtel	w.	16 J.	-	dunkel	+	+	++	+	-
				graubraun	dunkel	-	-	++	+++	++
				graubraun	hell	-	-	-	++	++
				hellgrau	hell	-	-	-	++	++
				braun	hell	-	-	-	+++	+++
				-	dunkel	-	-	-	++	++
82	Mittelpudel	m.	7 J.	-	dunkel	++	(+)	++	(+)	-
				braun	dunkel	+	-	+++	-	++
				braun	hell	-	-	-	-	-
				braun	dunkel	+	++	++	++	+
				braun	dunkel	-	-	(+)	-	(+)
				braun	dunkel	-	+	+	+	+

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dope-Reaktion	
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	Epid.	Derm.
83	Mittel-pudel	m.	4 J.	-	schwarz	+++	+	+++	+	-	-
				schwarz	dunkel	++	+	++	+	-	-
				schwarz	hell	-	-	-	-	-	-
				schwarz	hell	-	-	-	+	-	+
				schwarz	schwarz	+	-	+	-	-	-
				schwarz	dunkel	-	-	-	++	-	++
84	Spaniel w.	w.	9 J.	-	dunkel	+	++	+++	++	++	-
				rotbraun	schwarz	+	+	++	+	+	-
				rotbraun	hell	-	-	-	-	-	-
				rotbraun	hell	-	-	-	-	-	-
				hellgrau	hell	-	+	-	+++	-	++
				hellgrau	hell	-	+	-	+	-	-
85	Schäferhund	m.	11 J.	-	schwarz	++	+++	++	++	-	-
				grau	schwarz	+	+	++	+	+	+
				hellgrau	dunkel	-	-	-	+	-	+
				hellgrau	dunkel	-	-	-	-	-	-
				grau	schwarz	++	+++	++	+++	-	+
				grau	dunkel	-	-	-	+	-	+

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion	
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	Epid.	Derm.
86	Mittelpudel	m.	3 J.	-	schwarz	+++	+++	+++	+++	-	-
				schwarz	schwarz	++	-	++	+	-	+
				schwarz	hell	-	-	-	-	-	-
				schwarz	hell	-	-	-	-	-	-
				schwarz	schwarz	+	-	+	-	-	-
				schwarz	dunkel	-	-	-	-	-	-
87	Langhaardackel	w.	5 J.	-	schwarz	+	+	+++	+	++	-
				rotbraun	schwarz	-	-	++	++	++	++
				rotbraun	hell	-	-	+	+	+	+
				weiss	schwarzbraun	+	-	+	-	-	-
				weiss	braun	+	-	+	+++	-	++
				braun	dunkel	-	-	-	+++	-	+++
88	Spitz	w.	7 J.	-	hell	-	-	+++	-	+++	-
				weiss	hell	+	-	++	++	+	++
				weiss	hell	-	-	-	++	-	++
				weiss	dunkel	-	-	-	+++	-	+++
				weiss	hell	-	-	-	+++	-	+++
				weiss	dunkel	-	-	-	+++	-	+++

Lfd. Nr.	Rasse,	Geschl.,	Alter	Haarfarbe	Hautfarbe	Pigm.v.d. Inkubat.		Pigm.n.d. Inkubat.		Ergeb.d. Dopa-Reaktion	
						Epid.	Derm.	Epid.	Derm.	Epid.	Derm.
89	Zwerg-pudel	w.	7 J.	-	schwarz	+	+	++	+	+	-
				dunkelgrau	schwarz	++	+	+++	+	+	-
				dunkelgrau	hell	-	-	-	+	-	+
				hellgrau	hell	-	-	++	-	++	-
				grau	hell	-	-	-	+++	-	+++
				grau	dunkel	-	-	-	-	-	-
90	Schäfer-hund	m.	3 J.	-	schwarz	++	+	+++	+	+	-
				schwarz	schwarz	+	+	++	++	+	+
				grau	hell	-	-	-	++	-	++
				grau	hell	-	-	-	++	-	++
				hellgrau	schwarz	+	+	+	+	-	-
				braun	dunkel	-	-	-	+	-	+
a											
b											
c											
d											
e											
f											

IV. D i s k u s s i o n d e r E r g e b n i s s e

Aus den Untersuchungen geht hervor, daß bei den jeweils sechs Proben von insgesamt 68 Hunden eine unterschiedliche Situation hinsichtlich der Pigmentbildungsaktivität vorliegt, die durch die Durchführung der BLOCHschen Dopa-Reaktion objektiviert werden konnte. Trotz der bei den einzelnen Hunden und auch innerhalb der einzelnen Proben sehr unterschiedlichen Ergebnisse konnte überzeugend dargestellt werden, daß in der Pigmentbildungsaktivität verschiedener Hautlokalisation ein einheitliches Gefälle besteht. Diese Feststellung wird auch von REYNOLDS (1953) durch Versuchsreihen bei der Maus bestätigt. Auch die in der vorliegenden Arbeit erwähnte gelegentliche Konzentration der Melanoblasten um die Haarbalgwurzeln wird von REYNOLDS erwähnt. Die in der Literatur häufig beschriebene Entstehung von Melanomen in der Ano-Genitalregion bei Schimmeln dürfte in diese Richtung, also auf ein gesteigertes Pigmentbildungsgeschehen in dieser Region hinweisen.

Aus dem Zusammenhang zwischen der mangelhaften Behaarung in der Ano-Genitalregion und deren erhöhter Fermentaktivität einen Schluß zu ziehen (wofür auch die starke Pigmentaktivität in der ebenfalls nur schwach behaarten Lippengegend spräche) scheint uns aber nicht angebracht, da der immer gänzlich haarlose Nasenspiegel eine auffallend geringe Pigmentbildungsaktivität aufweist.

Nach einer Erklärung verlangt in diesem Zusammenhang auch noch das auffallende Mißverhältnis zwischen der großen Menge abgelagerten Pigmentes und der nur sehr geringgradigen Pigmentbildungsaktivität in Epidermis und Dermis des Nasenspiegels, der in nahezu allen Fällen makroskopisch schwarz war. Interessant ist dabei, daß sich im gesamten Untersuchungsgut nur ein Hund mit einer hellen, fleischfarbenen Nase befand und gerade in diesem Fall eine auffallend starke Melanoblastenansammlung in der Epidermis festgestellt werden konnte (Abb. 6).

Zum Abschluß kann festgestellt werden, daß aufgrund der vorliegenden Untersuchungen der Ansicht THOMPSONs (1966) nicht stattgegeben werden kann, wonach in der Haut immer eine Dopa-positive Fermentreaktion gegeben sein müsse. Vielmehr ist die Aussage LUNDs (1962) wesentlich überzeugender und durch unsere eigenen Untersuchungen bestätigt, daß die Enzymaktivität als ein sich nach den physiologischen Bedürfnissen der jeweiligen Hautregion richtender, ständig variierender Faktor anzusehen ist.

V. Z u s a m m e n f a s s u n g

1. Anhand der Literaturübersicht wird über die Nomenklatur der Pigmentzellen, ihre Zytologie, Histogenese und Physiologie sowie über die Biochemie der Melaninsynthese und die hormonelle Beeinflussung der Melanogenese berichtet.
2. Zur Untersuchung gelangten insgesamt 90 Hunde. Bei 68 von diesen wurden systematisch jeweils 6 Hautproben, aus der Gegend des Nasenspiegels, der Oberlippe, der ventralen Halsgegend, dem Unterbauch in der Regio umbilicalis, der Genital- und der Analregion, histochemisch untersucht.
3. Mittels der modifizierten BLOCHschen Dopa-Reaktion wurde die augenblickliche Pigmentbildungsaktivität in den einzelnen Regionen ermittelt.
4. Ein Intensitätsgefälle in der Reihenfolge:
Analgegend - Oberlippe - Genitalregion - Halsgegend - Unterbauch - Nasenspiegel konnte hierbei ermittelt werden. Nach Aufteilung der Hunde in 3 Altersgruppen zeigte sich diese Reihenfolge nur geringfügig verändert.
5. Zusammenhänge zwischen dem Grad der Pigmentbildungsaktivität einerseits und Alter, Rasse, Geschlecht, Haar- und Hautfarbe andererseits konnten nicht nachgewiesen werden.
6. In den insgesamt 22 Fällen von Dermopathien war eine Beeinflussung der Dopa-Reaktion nicht festzustellen.

Summary

Dopa Oxydase in the skin of dogs under normal and abnormal conditions.

1. Nomenclature, cytology, histogenesis and physiology of pigment cells and the biochemistry of melanin synthesis are discussed by means of literature references.
2. 90 dogs were examined. From 68 dogs skin specimens of the following regions were taken: nose, upper lip, ventral neck region, anogenital region. These specimens were examined by histochemical methods.
3. By the modified Dopa - reaction (BLOCH) the pigment producing activity in several regions was encountered.
4. A different activity in producing pigment was observed. Most activity was seen in the anal region, followed by lip, genital region, neck, umbilical region and nose. This sequence is not influenced by the age of the dogs.
5. Connections between pigment producing intensity and age, breed, sex or colour of hair and skin are not existant.
6. Diseased skin observed in 22 cases did not influence the Dopa reaction.

Abbildungen

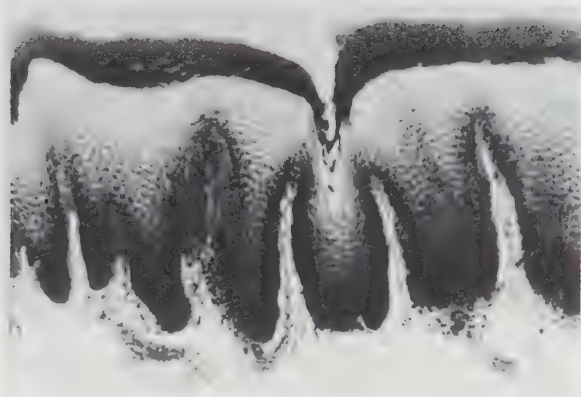


Abb. 5: Nasenspiegel, Hund 88, Giemsa-Färbung, 80x

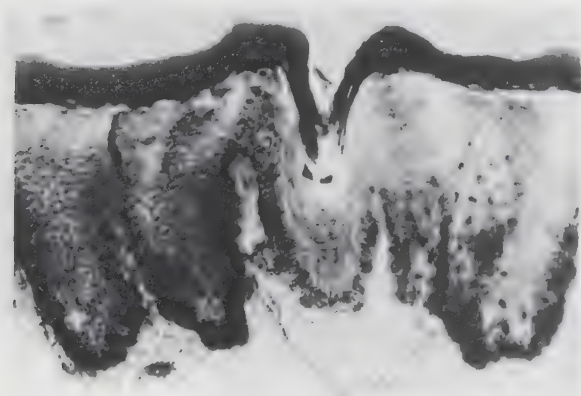


Abb. 6: Nasenspiegel, Hund 88, nach Dopa-Inkubation;
diffus verteilte Melanoblasten im Stratum
germinativum der Epidermis; Gegenfärbung
nach Giemsa, 80x

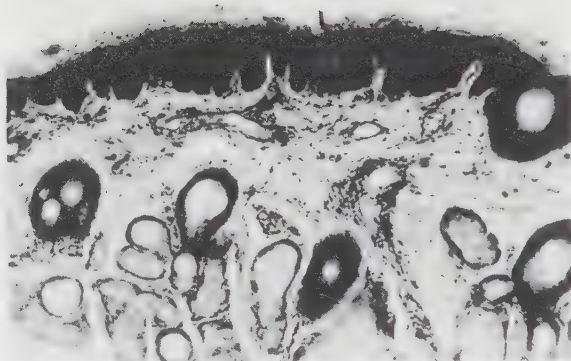


Abb. 7: Oberlippe, Hund 88, Giemsa-Färbung, 80x

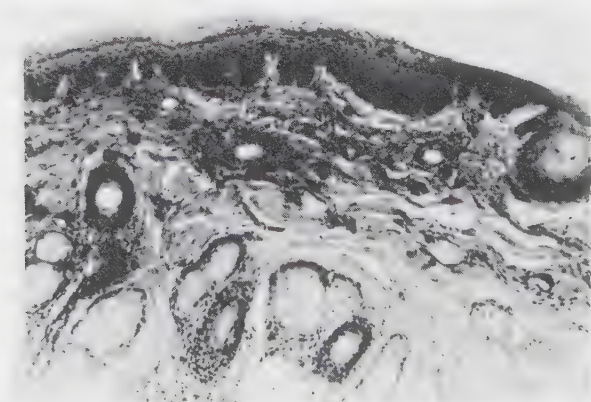


Abb. 8: Oberlippe, Hund 88, nach Dopa-Inkubation;
vereinzelte Melanoblasten in der Dermis;
Gegenfärbung nach Giemsa, 80x

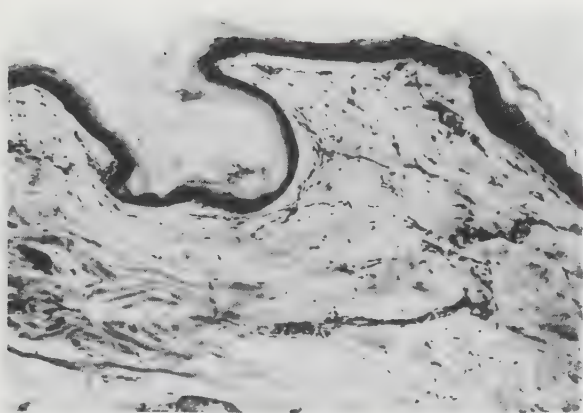


Abb. 9: Haut aus der ventralen Halsgegend, Hund 88, Giemsa-Färbung, 80x

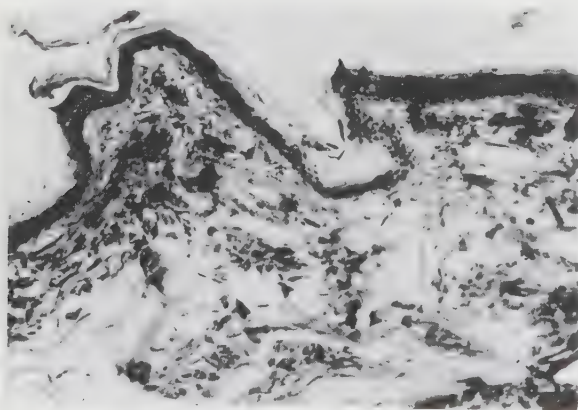


Abb.10: Haut aus der ventralen Halsgegend, Hund 88 nach Dopa-Inkubation; nesterförmige Ansammlung von Melanoblasten in der Dermis, Gegenfärbung nach Giemsa, 80x

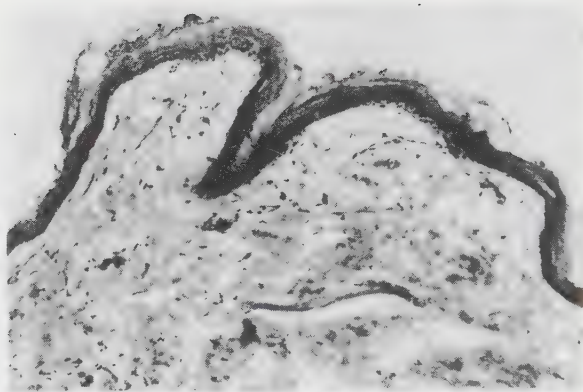


Abb. 11: Haut aus der Regio umbilicalis, Hund 88, Giemsa-Färbung, 80x



Abb. 12: Haut aus der Regio umbilicalis, Hund 88 nach Dopa-Inkubation, vereinzelte, in Nestern zusammengelagerte Melanoblasten. Gegenfärbung nach Giemsa, 80x

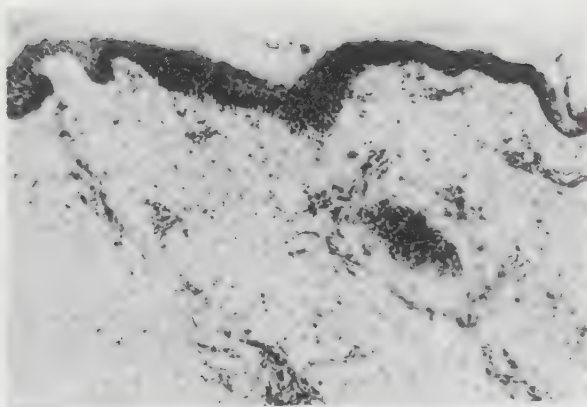


Abb. 13: Haut aus der Vulva, Hund 88, Giemsa-Färbung, 80x

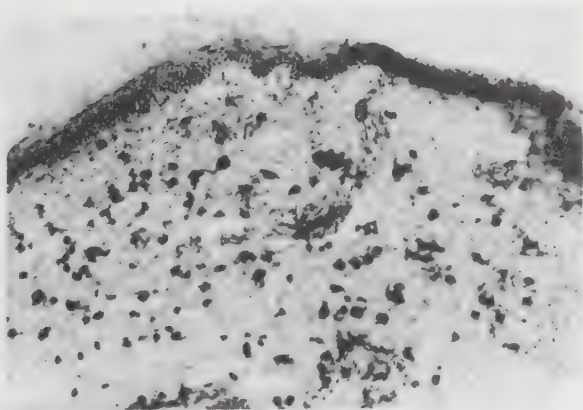


Abb. 14: Haut aus der Vulva, Hund 88, nach Dopa-Inkubation; zahlreiche Melanoblasten diffus in der Dermis verteilt; Gegenfärbung nach Giemsa, 80x

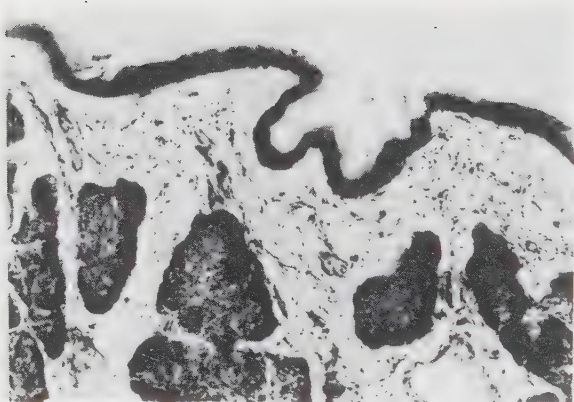


Abb. 15: Haut aus der Analgegend, Hund 88, Giemsa-Färbung 80x

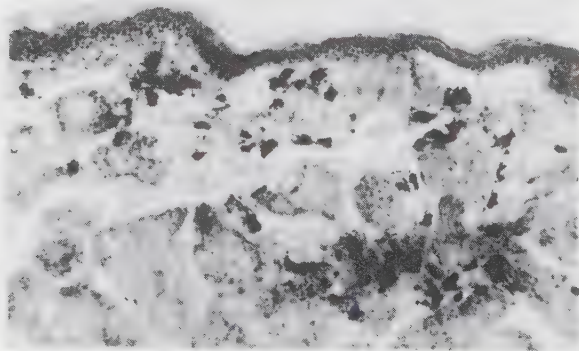


Abb. 16: Haut aus der Analgegend, Hund 88, nach Dopa-Inkubation; vereinzelte Melanoblasten teils diffus verteilt, teils nesterförmig zusammen-
gelagert; Gegenfärbung nach Giemsa, 80x

VI. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- AEBY, C., 1885, Die Herkunft des Pigments im Epithels.
Zbl.med.Wiss. 23, 273 - 275.
- BALDWIN, E., 1957, Biochemie. Verlag Chemie GmbH, Weinheim/
Bergstr., S. 104 - 107.
- BARNICOT, N.A. und M.S.C.BIRBECK, 1958, The electron micro-
scopy of human melanocytes and melanin granules. In:
Montagna, W. und R.A. Ellis: The biology of hair growth,
S. 239 - 253. New York and London Acad. Press.
- BECKER, S.W.jr., T.B.FITZPATRICK und H.MONTGOMERY, 1952, Human
melanogenesis: cytology and histology of pigment cells
(melanodendrocytes). A.M.A.Arch.Dermat. and Syph. 65,
511 - 523.
- BECKER, S.W., L.L.PRAVER und H.THATCHER, 1935, An improved
(paraffin section) method for the dopa-reaction.
With considerations of the dopa positive cell, as
studied by this method. Arch.Dermat. and Syph. 31,
190 - 195.
- BECKER, S.W.jr. und A.A.ZIMMERMANN, 1955, Further studies on
melanocytes and melanogenesis in the human fetus and
newborn. J.Invest.Dermat. 25, 103 - 112.
- BILLINGHAM, R.E. und W.K. SILVERS, 1960, The melanocytes of
mammals, Rev.Biol. 35, 1 - 40.
- BIRBECK, M.S.C., E.H.Mercer und M.A.BARNICOT, 1956, The structure
and formation of pigment granules in human hair.
Exper.Cell.Res. 10, 505 - 514.
- BIRBECK, M.S.C., 1962, Electron microscopy of melanocytes.
Brit.med.Bull. 18, 220 - 222.
- BLOCH, B., 1917, Chemische Untersuchungen über das spezifische
pigmentbildende Ferment der Haut, die Dopa-Oxydase.
Zschr. physiol.Chem. 98, 226 - 254.

- BLOCH, B., 1927, Das Pigment. In: Jadasohn, J.: Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten, Vol. I, S. 431 - 541. Verlag J. Springer.
- BORCEA, M. J., 1909, Sur l'origine du coeur, des cellules vasculaire migratrices et des cellules pigmentaires chez les teleosteens. Acad.Sci.(Paris) 149, 688 - 689.
- BRAUNSTEINER, H., F.MLCZOCZ und F.PAKESCH, 1958, Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Struktur von intrazellulärem Melanin beim Melanoblastom. Klin.Wschr. 36, 262 - 263.
- BREATHNACH, A.S., 1957, Melanocyte distribution in forearm epidermis of freckled human subjects. J.Invest. Dermat. 29, 253 - 261.
- BREATHNACH, A.S., 1964, Electron microscopy of melanocytes and melanosomes in freckled human skin. J. Invest.Dermat. 42, 389 - 395.
- Du BUY, H.G., M.W.WOODS, D.BURK und M.D.LACKEY, 1949, Enzymatic activities of isolated amelanotic and melanotic granules of mouse melanomas and a suggested relationship to mitochondria. J. Nat. Cancer Inst. 2, 325 - 336.
- CHARLES, A. und J.T.INGRAM, 1959, Electron microscope observations of the melanocyte of the human epidermis. J.Biophys.Biochem.Cytol. 6, 41 - 44.
- CHAVIN, W., 1956, J. exp. Zool. 133, 1 - 46.
- CHAVIN, W., 1959, Pituitary hormones in melanogenesis. In: Gordon, M. : Pigment Cell Biology. Acad.Press Inc. Publ. New York, S. 63 - 80.
- CLARK, W.H.jr., R.G.HIBBS und M.WATSON, 1958, Electron microscope studies of the human epidermis. The clear cell of Masson (dendritic cell or melanocyte). J.Biophys.Cytol. 4, 679 - 684.

- DAVID, H. und K.H.VELHAGEN, 1961, Zur Pigmentbildung in den Zellen des malignen Melanoblastoms des menschlichen Auges. *Verh. dt. Ges. f. Path.* 45, 214 - 218.
- Della PORTA, G. und O.MÜHLBOCK, 1966, Structure and Control of the Melanocyte, S. 1, Verlag J. Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
- DROCHMANS, P., 1960, Electron microscope studies of epidermal melanocytes and the fine structure of melanin granules. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 8, 165 - 180.
- DROCHMANS, P., 1960, Etude au microscope électronique du mécanisme de la pigmentation melanique. *Arch. belg. Derm.* 16, 155 - 163.
- EHRMANN, S., 1896, Das melanotische Pigment und die pigmentbildenden Zellen des Menschen und der Wirbeltiere in ihrer Entwicklung nebst Bemerkungen über Blutbildung und Haarwechsel. *Bibl. Med. D II* 6.
- FELIX, M.D. und A.J.DALTON, 1956, A comparison of mesothelial cells and macrophages in mice after the intraperitoneal inoculation of melanin granules. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 2, 109 - 114.
- FITZPATRICK, T.B., 1952, Human melanogenesis. The tyrosinase reaction in pigment cell neoplasms, with particular reference to the malignant melanoma: preliminary report. *A. M. A. Arch. Dermat. and Syph.* 65, 379 - 391.
- FITZPATRICK, T.B. und A.B.LERNER, 1953, Terminology of pigment cells. *Science* 117.
- FRANCOIS, J., A.LAGASSE und M.RABEAY, 1960, Electron microscopic data on pigment formation in melanoblastomata. *A. Arch. ophtal (Chikago)* 64, 377 - 381.
- GJESDAHL, F., 1959, Investigations on the melanin granules with special consideration of the hair pigment. *Acta path. microb. scand.* 113, 112 ff.
- GOLDBERG, S.A., 1958, The melanoblast as a mesodermal cell In: *Biology of melanomas*. New York Acad. Sc. (Special publ.) 4, 126 - 136.

- GREENBERG, S.S., M.J.KOPAC und M.GORDON, 1956, Cytology and Cytochemistry of melanoma cells. Ann. New York Acad. Sc. 67, 55 - 122.
- HIS, W., 1868, Untersuchungen über die erste Anlage des Wirbeltierleibes. F.C.W. Vogel, Leipzig.
- HORSTADIUS, S. und S.SELLMAN, 1946, Experimentelle Untersuchungen über die Determination des knorpeligen Kopfskeletts bei Urodelen. Acta Reg. Soc. Sci. Upsaliensis 12, 1 - 170.
- ITO, H., 1952, Studies on melanin. Tohoku J. Exper. Med. 55, 1 - 104 (suppl. 1).
- JARISCH, C. 1892, Arch. J. Dermat. 118, 837.
- KARLSON, P., 1966, Lehrbuch der Biochemie. Gg. Thieme, Stuttgart, 143 - 147.
- ROECKE, H.U., 1959, Die Differenzierung der Melanoblasten zu Melanozyten und die Bildung des Melanins in vivo beim Entenembryo. Z. Zellforsch. 50, 238 - 274.
- KREIBICH, C., 1913, zit. nach STARCK (1964)
- KROLLING, O. und H.GRAU, 1960, Lehrbuch der Histologie und vergleichende mikroskopische Anatomie der Haustiere. Parey Verlag, Berlin.
- LAIDLAW, G.F., und S.N.BLACKBERG, 1932, Melanoma studies. II. A simple technique for the dopa-reaction. Am. J. Path. 8, 491-498
- LERNER, A.B. und J.D.CASE, 1959, Pigment cell regulatory factors. J. invest. Dermat. 32, 211 - 221.
- LERNER, A.B. FITZPATRICK, T.B., 1950, Biochemistry of melanin formation. Physiol. Rev. 30, 91 - 126.
- LERNER, A.B., T.B.FITZPATRICK, E.CALKINS und W.H.SUMMERSON, 1949, Mammalian tyrosinase: Preparation and properties. J. Biol. Chem. 178, 185 - 195.

- LORINCZ, A.L., 1950, Studies on the inhibition of melanin formation, J.invest.Dermat. 15, 425 - 432.
- LUND, H.Z., 1962, Melanotic tumors of the skin. Armed Forces Institute of Pathology, Washington D.C.
- McMANUS, J.F.A., R.W.MOWRY, 1960, Staining methods. Histologic and histochemical. New York, Paul B. Hoeber, Inc.
- MASSON, P., 1948, Pigment cells in man. N.Y.Acad. Sc. 4, 15 - 37.
- MEIROWSKY, E. und L.FREEMAN, 1951, Kontroversen über den Ursprung des melanotischen Pigments. Hautarzt 2, 201 - 207.
- MIESCHER, G., 1922, Die chromatophoren in der Haut des Menschen. Ihr Wesen und die Herkunft ihres Pigmentes. Ein Beitrag zur Phagozytose der Bindegewebszellen. Arch.f.Dermat.und Syph. 139, 315 - 425.
- PRENANT, A., 1909, Observations sur les cellules pigmentaires et sur le pigment des amphibiens. Ass.Anat. 44.
- RABL, 1896, zit. nach STARCK (1964).
- RAPER, H.S., 1928, The aerobic oxidases. Physiol.Rev. 8, 245 - 282.
- RAWLES, M.W., 1948, Origin of melanophores and their role in development of color pattern in vertebrates. Physiol.Rev. 28, 383 - 408
- REIFENSTEIN, E.C., 1961, Endocrine glands. In: Pathologic Physiology, W.A.Sodeman, Saunders Comp., London
- REYNOLDS, J., 1953, The epidermal melanocytes of mice. J. of Anat. 88, 45 - 58.
- ROMEIS, B., 1948, Mikroskopische Technik. Leibniz Verlag, S. 266 - 277.
- SCHUBERG, A., 1903, Untersuchungen über Zellverbindungen (I.Teil). Z.wiss.Zool. 74.

- Du SHANE, G.P., 1943, The embryology of vertebrate pigment cells. I. Amphibia. Rev.Biol. 17, 109 - 127.
- Du SHANE, G.P., 1944, The embryology of vertebrate pigment cells. II. Birds. Rev.Biol. 19, 98 - 117.
- SNELL, R.S., 1965, An electron microscopic study of the dendritic cells in the basal layer of guinea-pig epidermis. Z.Zellforsch. 66, 457 - 470.
- SPAAR, F.W., und H.WILLE, 1959, Zur vergleichenden Pathologie der Hypophysenadenome der Tiere. Zbl.Vet.Med. 6, 925 - 944.
- STARCK, D., 1964, Herkunft und Entwicklung der Pigmentzellen. In: Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten von J.Jadassohn. Springer Verlag. S. 139 - 175.
- STOLK, A., 1960, The role of the golgi apparatus in the formation of melanin granules in the malignant melanoma of Killifish hybrids. Naturwiss. 47, 448 - 449.
- THOMPSON, S. und R.D.HUNT, 1966, Selected histochemical and histopathological methods. Charles C. Thomas Publisher, Springfield, Ill. 711 712.
- WEIDENREICH, F., 1912, Die Lokalisation des Pigmentes und ihre Bedeutung in Ontogenie und Phylogenie der Wirbeltiere. Z.Morph.Anthrop. Supp. 2, 59 - 140.
- WEISSENFELS, N., 1956, Licht-, Phasen- und elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Entstehung der Propigmentgranula in Melanoblastenkulturen. Z.Zellforsch. 45, 60 - 73.
- WELLINGS, S.R. und B.V. SIEGEL, 1959, Role of golgi apparatus in the formation of melanin granules in human malignant melanoma. J. ultrastruct.Res. 2, 147-154.
- WELLINGS, S.R. und B.V.SIEGEL, 1960, Electron microscopy of human malignant melanoma. J.Nat.Cancer Inst. 24, 437 - 451.

- WELLINGS, R.S. und B.V.SIEGEL, 1963, Electron microscopic studies on the subcellular origin and ultra-structure of melanin granules in mammalian melanomas. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 100, 548 - 568.
- WELLINGS, S.R., R.BARISHAK und B.V.SIEGEL, 1960, Cytological studies of human malignant melanoma. *Cancer Res.* 20, 347 - 350.
- WOODS, M., Du BUY, H. und D.BURK, 1950, Evidence for the mitochondrial (sic) nature and function of melanin granules. *Zoologica* 35, 30 - 31.
- ZIMMERMANN, A.A., 1948, The development of epidermal pigmentation in the negro fetus. *Anat.Rec.* 100, 96.
- ZIMMERMANN, A.A. und S.W., 1959, Melanoblasts and melanocytes in fetal negro skin. *Monogr. med.Sci.* 6, 1 - 59.
- ZIMMERMANN, A.A. und T. CORNBLEET, T., 1948, The development of epidermal pigmentation in the negro fetus. *J.invest.Dermat.* 11, 383 - 395.
- ZIMMERMANN, L.E., 1965, Melanocytes, melanocytic naevi, melanocytomas. *Invest.ophtal.* 4, 11 - 41.

L e b e n s l a u f

Am 28. Dezember 1942 wurde ich, Theodor M a n t e l , als Sohn des Landwirtschaftsdirektors Dr. Karl Mantel und seiner Ehefrau Dr. Hildegard, geb. Hoffa in München geboren.

Von 1948 bis 1952 besuchte ich die Volksschule, anschließend die Oberrealschule in Erding, wo ich 1961 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1961/62 begann ich das Studium der Tiermedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München. Die Tierärztliche Prüfung bestand ich im Juli 1966.

Nach der Beendigung der Praktikantenzeit erhielt ich im März 1967 die Bestallung als Tierarzt.

Seit April 1967 bin ich als Assistent in der Praxis tätig.

Mit den Arbeiten zur vorliegenden Dissertation bin ich seit November 1963 beschäftigt.

Am Ende meiner Arbeit danke ich Herrn Professor Dr. H. Sedlmeier für die Überlassung des Themas und das großzügig gewährte Entgegenkommen, mir durch die Überlassung der Institutseinrichtungen optimale Arbeitsbedingungen in seinem Hause zu schaffen.

Ganz besonders herzlich möchte ich mich bei Herrn apl. Professor Dr. E. Weiß für seine wertvollen Ratschläge und die jederzeit gern gewährte Hilfe bei der Anfertigung der Arbeit bedanken.

Mein Dank gilt auch dem medizinisch-technischen Personal des Instituts für die bereitwillige Hilfe in allen labortechnischen Angelegenheiten.

